

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Marburg
Direktor: Prof. Dr. med. P. Gedigk

Morphologische Veränderungen in der Leber des Kaninchens nach Bilirubin-Injektionen in die Blutbahn

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Ursula Müller, geb. Müller-Wallraf
aus Düsseldorf

Marburg 1968

Fotodruck von Erich Mauersberger in Marburg

Morphologische Veränderungen in der Leber des Kaninchens nach Bilirubin-Injektionen in die Blutbahn

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Ursula Müller, geb. Müller-Wallraf
aus Düsseldorf

Marburg 1968

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg/Lahn am 22. 2. 1968

gedruckt mit der Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof. Dr. med. R. SIEGERT

Referent: Prof. Dr. med. P. GEDIGK

Correferent: Doz. Dr. med. G. KORB

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Material und Methoden	2
III. Untersuchungsergebnisse	5
IV. Diskussion der Ergebnisse	19
V. Zusammenfassung.....	34
VI. Literaturverzeichnis	35



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. Einleitung:

Tierexperimentelle Untersuchungen mit Bilirubin-Injektionen in die Blutbahn wurden bereits seit der zweiten Hälfte des vorigen Jahrhunderts (FELS und RITTER 1870, TARCHANOFF 1874) in großer Zahl durchgeführt. Dabei standen vornehmlich zwei Fragenkomplexe im Vordergrund, nämlich die Ausscheidungsfunktion der Leber nach Bilirubin-Injektionen in die periphere Blutbahn (u. a. SCHWEZOFF 1930, STROEBE 1932, BERMAN, SNAPP und IVY 1941, CABELLO RUZ 1943, CANTAROW, WIRTZ, SNAPE und MILLER 1948, WEINBREN und BILLING 1956) und die Frage nach der Art der Bilirubinbindung im Serum (u. a. FROMMHOLDT und NERSESSOFF 1921, MEIER und HEINELT 1923, WESPI 1935, SNAPP, GUTMANN, LI und IVY 1947, WESTPHAL und GEDIGK 1949, GEDIGK 1960). Bei diesen Arbeiten wurde das Bilirubin - ähnlich wie bei der extrahepatischen Bildung des Gallenfarbstoffes unter normalen Bedingungen - in die Körperperipherie intravenös injiziert und gelangte nach der Bindung an Serumproteine (WESTPHAL, OTT und GEDIGK 1950, GEDIGK und GRIES 1952) in die Leber, wo es nach der Trennung der Bilirubin-Eiweißbindung mit Glukuronsäure verestert und mit der Galle ausgeschieden wurde.

Der Transport des Bilirubins durch die Serumproteine ist aber nicht immer gewährleistet. Nach einem extremen Blutzerfall oder bei einer Hypalbuminaemie kann u. U. die Bindungskapazität des Serums für Bilirubin überschritten werden, das dann in freier Form, d. h. weder an Glukuronsäure noch an das Vehikel des Eiweißkörpers gebunden, unmittelbar an die Leberzellen und an die von Kupffer'schen Sternzellen gelangt, von ihnen aufgenommen und verarbeitet wird. Da freies Bilirubin toxische Eigenschaften hat, muß damit gerechnet werden, daß es Schädigungen des Leberparenchyms verursacht.

Um die Wirkung des freien Bilirubins auf das Leberparenchym verfolgen zu können, injizierten wir in neueren Experimenten wässrige Lösungen von Bilirubin direkt in die Pfortader von Kaninchen. Da bei dieser Versuchsanordnung die Bindungsfähigkeit der Proteine des Pfortaderblutes für Bilirubin mit Sicherheit überschritten wird, kann auf der kurzen Strecke zwischen der Injektionsstelle und der Leber (ca. 2 cm) nur eine unvollständige Bindung des Gallenfarbstoffes an Eiweißkörper erfolgen und somit die unmittelbare Wirkung des freien Bilirubins auf die Leberzellen und auf die von Kupffer'schen Sternzellen beobachtet werden.

Zur Kontrolle führten wir Experimente mit üblichen intravenösen Bilirubin-Injektionen in die Ohrvene sowie mit Bilirubin-Injektionen in die Milz durch. Schließlich wurden Bilirubin-Injektionen in die Pfortader nach einer vorausgegangenen Tetrachlorkohlenstoffvergiftung der Leber vorgenommen.

Dabei galt unser Interesse der Frage, zu welchem Zeitpunkt und an welchen Stellen durch freies Bilirubin verursachte Leberparenchymschädigungen auftreten, und ob Beziehungen zwischen den morphologischen Befunden, der Art der Bilirubin-Injektion und der Höhe des Bilirubinspiegels im Serum bestehen.

II. Material und Methoden:

1. Tierversuche (s. auch Tab. 1):

Bei Kaninchen mit einem Körpergewicht zwischen 3000 und 4500 g haben wir in Trapanal-Narkose (80 - 120 mg in 1%iger Lösung intravenös) eine Laparotomie durchgeführt und bei einem Teil der Tiere in die kurz vor dem Eintritt in die Leberpforte freigelegte Pfortader 50 bzw. 100 mg Bilirubin

(100 mg Bilirubin purissimum "Homburg", 370 mg wasserfreies Natriumkarbonat und 20 ml destilliertes Wasser) injiziert (s. Tab. 1).

Zur Kontrolle wurde bei einem Kaninchen auf die Bilirubin-Injektion verzichtet; bei zwei Tieren nahmen wir nur eine Injektion von 20 ml physiologischer Kochsalzlösung in die Pfortader vor.

In weiteren Versuchen injizierten wir 100 mg Bilirubin "Homburg" in die Ohrvene oder in die Milz. Bei einigen Tieren wurde 24 Stunden vor einer Injektion von 100 mg Bilirubin in die Pfortader 0,1 ml Tetrachlorkohlenstoff pro 100 g Körpergewicht subcutan verabfolgt.

10 Minuten nach Eröffnung der Bauchhöhle bzw. 5 Minuten nach der Injektion der Kochsalzlösung oder des Bilirubins entnahmen wir durch eine Keilexcision am unteren Rand des linken Leberlappens Gewebe für die erste histologische Untersuchung. Nach der Blutstillung und einer Parenchymnaht wurde die Laparotomiewunde in zwei Schichten verschlossen und zu weiteren Keilexcisionen nach 3 Stunden, 24 Stunden und 48 Stunden sowie bei einem Teil der Tiere nach einem weiteren größeren Intervall wieder eröffnet.

Bei allen Tieren trat schon kurz nach der Bilirubin-Injektion, unabhängig von dem Ort der Injektion, eine Tachycardie und Tachypnoe ein.

Zur Auswertung verwendeten wir nur solche Tiere, bei denen keine Komplikationen, wie Ausbildung einer Peritonitis oder Pfortaderverschlüsse, nachweisbar waren.

Tabelle 1

Übersicht über die Tierversuche

	Versuchs-Nr.	Art des Versuchs	Gewebsentnahmen aus der Leber nach:					
			5 min	3 Std.	24 Std.	48 Std.	mehr als 2 Tagen	
Vor- ver- suche	a K 5	Laparotomie ohne Inj.	+	+	+	-	-	
	b K 13	20 ml phys. NaCl in die Pfortader	+	+	+	+	-	
	K 14	"	+	+	+	+	-	
Haupt- ver- suche	a K 2	50 mg Bilirubin in die Pfortader	+	+	+	+	28 Tg.	
	K 3	"	+	+	-	-	-	
	K 4	"	+	+	+	+	5 Tg.	
	b K 7	100 mg Bilirubin in die Pfortader	+	+	+	+	-	
	K 9	"	+	+	+	+	-	
	K 12	"	+	+	+	+	10 Tg.	
	K 15	"	+	+	+	+	-	
	K 16	"	+	+	+	-	-	
	K 6	"	+	+	+	+	58 Std.	
	K 11	"	+	+	+	+	+	
	K 24	"	+	+	+	+	-	
Zusätz- liche Kon- troll- ver- suche	a K 8	100 mg Bilirubin in die Ohrvene	+	+	+	+	-	
	b K 18	100 mg Bilirubin in die Milz	+	+	+	+	-	
	K 19	"	+	+	+	+	-	
	K 20	"	+	+	+	+	-	
	c K 21	1 ml CCl ₄ /kg Kör- pergewicht; 24 h später 100 mg Bilirubin in die Pfortader	+	+	+	-	-	
	K 22	"	+	+	+	-	-	
	K 23	"	+	+	-	-	-	

. Untersuchungsmethoden:

) Histologische Untersuchungen:

as durch Keilexcision gewonnene Lebergewebe wurde in 10%iger formalinlösung fixiert. Von einem Teil der Gewebstückchen fertigten wir Gefrierschnitte an und färbten sie zur Fettdarstellung mit Sudan III. Von dem übrigen Gewebe wurden in üblicher Weise Paraffin-Schnitte hergestellt und mit Haematoxylin-
osin gefärbt.

) Bestimmung des Bilirubins im Serum:

on allen Tieren haben wir 10 Minuten vor der ersten Laparotomie sowie 5 Minuten, 4 Stunden und 24 Stunden später das Gesamtbilirubin und das direkte Bilirubin im Serum mit der Mikromethode nach JENDRASSIK-CLEGHORN (1937), sowie GEDIGK (1950) unter Verwendung eines Elco-Photometers bestimmt.

II. Untersuchungsergebnisse:

. Histologische Befunde:

. Vorversuche:

) Laparotomie und Relaparotomie ohne Bilirubin-Injektion

5; nach 5 min: Das Leberparenchym zeigt eine regelrechte Architektur. Um die Zentralvenen finden sich als Zeichen einer geringen akuten Blutstauung geringgradig erweiterte, prall mit Erythrocyten gefüllte Sinusoide. Weder in den Leberzellen noch in den Kupffer'schen Sternzellen stellen sich Fetteinlagerungen dar.

nach 3 Std.: Zusätzlich trifft man ab und zu auf sog. "dunkle Leberzellen". Sie sind kleiner als die normalen Leberzellen und zeigen neben einem dichten, vermehrt mit Eosin anfärbbaren Cytoplasma pyknotische Kerne.

nach 24 Std.: Weiterhin besteht eine leichte zentrale Blutstauung. Dunkle Leberzellen sind nur sehr vereinzelt nachweisbar.

b) Injektion von 20 ml physiologischer Kochsalzlösung in die Pfortader

K 13; nach 3 min und 3 Std.: Als einzige Veränderung findet sich eine geringe zentrale Blutstauung.

nach 24 Std.: Neben einer nicht sehr ausgeprägten zentralen Blutstauung sieht man in der zentralen und intermediären Läppchenregion blasig entartete Leberzellen. Sie sind durch ein wabiges, helles, fast pflanzenzellartiges Cytoplasma und kleine exzentrisch angeordnete Kerne gekennzeichnet.

nach 48 Std.: Nach wie vor besteht eine leichte zentrale Blutstauung. Weitere Veränderungen liegen nicht vor.

K 14; nach 3 min und 3 Std.: Wiederum ist eine leichte zentrale Blutstauung zu erkennen.

nach 24 Std.: Bevorzugt in den zentralen Läppchenabschnitten stellen sich vereinzelt blasig entartete Leberzellen dar.

nach 48 Std.: Außer einer geringen zentralen Blutstauung sind keine Besonderheiten festzustellen.

2. Hauptversuche:

a) Injektion von 50 mg Bilirubin in die Pfortader

K 2; nach 3 min, Bis auf eine bis 48 Stunden nach der Injek-
3, 24, 48 Std. tion nachweisbare leichte zentrale Blut-
und 28 Tg.: stauung lassen sich keine Veränderungen
feststellen.

K 3; nach 3 min Es besteht lediglich eine geringe zentrale
und 3 Std.: Blutstauung.

K 4; nach 3 min, Neben einer leichten zentralen Blutstauung
3 u. 24 Std.: sind vereinzelte dunkle Leberzellen zu er-
kennen.

nach 48 Std.: In den Läppchenzentren sind mehrfach Gruppen-
nekrosen entstanden. In einigen periportal-
en Feldern trifft man auf lockere Ansammlungen
eosinophiler Leukocyten.

nach 5 Tg.: Die zentralen Gruppennekrosen befinden sich
z. T. in Auflösung und Resorption. Ab und
zu ist es in diesen Bezirken zu einem Gerüst-
kollaps gekommen.

b) Injektion von 100 mg Bilirubin in die Pfortader

K 7; nach 3 min, Bis auf eine geringe zentrale Blutstauung
3, 24 und lassen sich keine Veränderungen nachweisen.
48 Std.:

K 9; nach 3 min Neben einer geringen zentralen Blutstauung
und 3 Std.: trifft man auf vereinzelte, disseminiert
angeordnete dunkle Leberzellen.

nach 24 u.
48 Std.: In zentralen Läppchenabschnitten stellen sich mehrfach z. T. von polymorphkernigen Leukocyten durchsetzte herdförmige Parenchymzellnekrosen dar, die sich mitunter bis in die Intermediärzonen erstrecken.

K 12; nach 3 min,
3, 24 und
48 Std.: Bis 48 Stunden nach der Bilirubin-Injektion liegt eine leichte zentrale Blutstauung vor.

nach 10 Tg.: Keine wesentlichen krankhaften Veränderungen.

K 15; nach 3 min,
3 u. 24 Std.: In den zentralen Läppchenabschnitten sieht man eine leichte Blutstauung. Außerdem lassen sich besonders 3 Stunden nach der Injektion vereinzelte dunkle Leberzellen nachweisen.

nach 48 Std.: Bevorzugt in der Umgebung von Zentralvenen sind unterschiedlich große herdförmige Parenchymzellnekrosen entstanden, die besonders in peripheren Abschnitten locker von polymorphkernigen Leukocyten durchsetzt werden.

K 16; nach 3 min,
3 u. 24 Std.: In den Läppchenzentren ist eine leichte Blutstauung zu erkennen.

K 6; nach 3 min: Neben einer leichten zentralen Blutstauung sind teils einzeln, teils zu kleinen Gruppen angeordnete dunkle Leberzellen vorhanden. Daneben erkennt man in der unmittelbaren Nähe der periportal en Felder mehrfach erweiterte Sinusoidabschnitte, die mit Gallenfarbstoffniederschlägen ausgefüllt sind. Ab und zu besitzen die unmittelbar angrenzenden Leberzellen ein auffallend helles, kaum mit Eosin anfärbbares Cytoplasma mit feinfädigen

Strukturen. Die Kerne weisen z. T. eine beginnende Pyknose auf (Abb. 1).

Sehr vereinzelt trifft man auch in den Gallengängen auf Gallenfarbstoffniederschläge (Abb. 2).

nach 3 Std.: Die periportalen Felder sind jetzt häufig oedematös aufgelockert. In den Gallengängen finden sich mehrfach Gallenfarbstoffniederschläge. Daneben lassen sich gelegentlich kleine umschriebene Defekte der epithelialen Auskleidung nachweisen. In der Umgebung der Gallengänge werden die periportalen Felder von unterschiedlich dichten entzündlichen Infiltraten durchsetzt, die sich vornehmlich aus eosinophilen polymorphkernigen Leukocyten aufbauen. Die Äste der Pfortader sind mitunter erweitert. Daneben stellen sich auch in den Bindegewebsspalten der periportalen Felder mehrfach feinfädige Gallenfarbstoffniederschläge dar. Weitere Niederschläge sind in erweiterten peripheren Sinusoidabschnitten vorhanden. In der Umgebung sieht man kleine Gruppen gallig imbibierter Leberzellnekrosen, die locker von eosinophilen Leukocyten umgeben werden. Schließlich ist es verhältnismäßig häufig in engem Kontakt zu den periportalen Feldern zur Ausbildung unterschiedlich großer Netznekrosen gekommen, die sich ab und zu bis in die Nähe der Zentralvene erstrecken (Abb. 3).

Die Netznekrosen sind durch helle, fast optisch leere Leberzellen gekennzeichnet, die entweder kernlos erscheinen oder pyknotische Kerne zeigen. In einigen peripher liegenden Zellen sind ab und zu feintropfige

Lipideinlagerungen nachweisbar. Durch deutliche Zellgrenzen und intakte Sinusoide weisen die Nekrosen charakteristische netzförmige bzw. wabenartige Strukturen auf. In einem Teil der Netznekrosen, die in der Regel zunächst scharf von der Umgebung abgegrenzt sind und mit keiner wesentlichen entzündlichen Reaktion einhergehen, sieht man einige ektatische, prall mit Blut gefüllte Sinusoide oder kleine Haemorrhagien. In einigen wenigen Fällen ist es außerdem zu einer partiellen galligen Imbibition gekommen. Schließlich weisen einige kleinere Netznekrosen die Zeichen einer beginnenden Auflösung auf.

nach 24 Std.: Abgesehen von den bereits beschriebenen Veränderungen sieht man gelegentlich in der unmittelbaren Nähe periportalender Felder flächenhafte Gallenfarbstoffniederschläge, die Erythrocyten und zugrundegehende gallig imbibierte Leberzellen einschließen. Die Netznekrosen sind jetzt in der Regel nicht mehr so scharf von der Umgebung abgegrenzt wie nach 3 Stunden. Häufig ist bereits eine mehr oder weniger deutliche Auflösung eingetreten, die mit einer Entlastungshyperaemie in diesen Zonen einhergeht. Gelegentlich deutet sich auch ein beginnender Gerüstkollaps an. In anderen kleineren Netznekrosen erscheinen die Leberzellen eher verdichtet. Hier weist das Cytoplasma eine schwache Anfärbbarkeit mit Eosin auf. Im übrigen Leberparenchym sind zahlreiche Zellen mittel- bis grobtropfig verfettet.

nach 48 Std.: Im Gegensatz zu früheren Zeitpunkten sind jetzt nur noch verhältnismäßig selten Gallenfarbstoffniederschläge festzustellen. Die entzündliche Infiltration der periportalen Felder hat sich zurückgebildet. Ein Teil der Netznekrosen stellt sich nahezu unverändert dar. In anderen ist in Verbindung mit einer weitgehenden Auflösung ein Gerüstkolaps entstanden. Außerdem sind gallig imbibierte Netznekrosen vorhanden, in deren Bereich die Zellen jetzt streckenweise eine homogene Umwandlung und gesteigerte Eosinophilie des Cytoplasmas und somit das Bild einer Koagulationsnekrose zeigen.

Schließlich fallen wiederum in peripheren Läppchenabschnitten Herde auf, die, ähnlich wie bei typischen Netznekrosen, auffallend deutliche Zellgrenzen zeigen, in denen die Leberzellen jedoch ein teils amorphes, teils feingranuliertes oder feinfädiges, schwach mit Eosin anfärbbares Cytoplasma sowie gelegentlich auch Zellkerne besitzen. In den übrigen Leberanteilen liegt eine mäßiggradige mittel- bis grobtropfige Verfettung vor.

nach 58 Std.: Bis auf eine Abnahme der Verfettung liegen gleiche Veränderungen wie nach 48 Stunden vor. Dabei sind auch jetzt noch voll ausgebildete typische Netznekrosen vorhanden.

11; nach 3 min: In den Acini sieht man ab und zu dunkle Leberzellen sowie bevorzugt in den peripheren Abschnitten vereinzelte erweiterte Sinusoidabschnitte mit Gallenfarbstoffniederschlägen. Außerdem findet sich eine geringe zentrale Blutstauung.

nach 3 Std.: Häufiger als nach 3 Minuten sind jetzt in peripheren Läppchenabschnitten erweiterte Sinusoidabschnitte mit Gallenfarbstoffniederschlägen vorhanden. Weitere Niederschläge lassen sich in den Gallengängen und gelegentlich auch in Bindegewebsspalten der periportalten Felder nachweisen. Vornehmlich in der Umgebung der Gallengänge liegen lockere Ansammlungen von eosinophilen Leukocyten. Im übrigen Leberparenchym sind neben einer leichten bis mitteltropfigen Verfettung von Leukocyten umgebene Einzelzellnekrosen zu erkennen.

nach 24 Std.: In engem Kontakt zu periportalten Feldern sind typische Netznnekrosen entstanden; sie zeigen keine wesentliche entzündliche Umgebungsreaktion und schließen mitunter erweiterte, prall mit Erythrocyten gefüllte Sinusoide ein. Daneben besteht eine mäßiggradige, fast diffuse, fein- bis mitteltropfige Leberzellverfettung.

nach 48 Std.: Ein Teil der Netznnekrosen ist in peripheren Abschnitten gallig imbibiert. Gleichzeitig deutet sich auch hier eine homogene Umwandlung mit einer verstärkten Eosinophilie an. Andere Netznnekrosen befinden sich in Auflösung, wobei sich mehrfach ein beginnender Gerüstkollaps darstellt. Gelegentlich trifft man anstelle von Netznnekrosen von Erythrocyten durchsetzte Trümmerzonen. Außerdem fallen peripher angeordnete Leberzellgruppen durch deutliche Zellgrenzen auf. Sie zeigen pyknotische Kerne und ein meist

feingranuliertes oder feinfädiges, schwach anfärbbares Cytoplasma. Schließlich stellen sich wiederum vornehmlich in peripheren Läppchenabschnitten herdförmige, stellenweise locker von polymorphkernigen Leukocyten durchsetzte, gallig imbibierte Koagulationsnekrosen dar. Das übrige Leberparenchym ist mäßiggradig fast diffus fein- bis mitteltropfig verfettet.

K 24; nach 3 min: Neben einer leichten zentralen Blutstauung fallen in peripheren Läppchenanteilen vereinzelte erweiterte Sinusoide mit Gallenfarbstoffniederschlägen auf.

nach 3 Std.: Die periportalten Felder sind in wechselndem Maße oedematös aufgelockert. Sowohl in der Lichtung als auch in der Wand von Gallengängen sowie in Bindegewebsspalten sieht man verhältnismäßig häufig Gallenfarbstoffniederschläge, die von unterschiedlich dichten, vornehmlich aus eosinophilen Leukocyten bestehenden entzündlichen Infiltraten umgeben werden. Ab und zu finden sich in Verbindung mit periportalten Feldern in die peripheren Läppchenabschnitte reichende, unscharf begrenzte Gallenfarbstoffniederschläge, die nekrotische und z. T. gallig imbibierte Leberzellgruppen einschließen. Weitere Gallenfarbstoffniederschläge sind in peripheren Sinusoidabschnitten zu erkennen. Daneben sind besonders in peripheren Läppchenabschnitten zahlreiche z. T. an der Peripherie gallig imbibierte Netznnekrosen entstanden, die sich teilweise bereits in Auflösung befinden (Abb. 4). Das restliche Leberparenchym zeigt eine leichte fein- bis mitteltropfige diffuse Verfettung.

nach 24 Std.: Mehrfach hat sich im Bereich weitgehend aufgelöster Netznnekrosen ein Gerüst kollaps ausgebildet.

nach 48 Std.: Neben jetzt unscharf von der Umgebung abgegrenzten, mehr oder weniger aufgelösten und z. T. gallig imbibierten Netznnekrosen stellen sich in der Umgebung periportalr Felder ausgedehnte, gallig imbibierte Nekrosen dar, in denen die Leberzellen ein homogenes oder scholliges Cytoplasma mit einer vermehrten Eosinophilie besitzen. Die Sinusoide sind hier erweitert und prall mit Blut gefüllt.

3. Zusätzliche Kontrollversuche:

a) Injektion von 100 mg Bilirubin in die Ohrvene

K 8; nach 3 min, Ohne Bevorzugung einer bestimmten Lokalisation sind vereinzelte dunkle Leberzellen vorhanden. 3 u. 24 Std.: Außerdem liegt eine leichte zentrale Blutstauung vor.

nach 48 Std.: Die periportalr Felder sind etwas verbreitert; sie enthalten teils diffus, teils herdförmig um die Gallengänge angeordnet lockere entzündliche Infiltrate, die sich aus histiocytären Elementen und eosinophilen Leukocyten aufbauen.

b) Injektion von 100 mg Bilirubin in die Milz

K 18; nach 3 min: Bis auf eine geringe zentrale Blutstauung sind keine wesentlichen Veränderungen zu erkennen.

nach 3 Std.: In der Nähe periportaler Felder stellen sich mehrfach erweiterte Sinusoidabschnitte dar, deren Lichtungen mit Gallenfarbstoffniederschlägen ausgefüllt sind.

nach 24 und 48 Std.: Keine wesentlichen Veränderungen.

K 19; nach 3 min: Geringe zentrale Blutstauung.

nach 3 Std.: In der Läppchenperipherie sieht man ab und zu in den erweiterten Sinusoiden Gallenfarbstoffniederschläge. Daneben finden sich vereinzelte dunkle Leberzellen.

nach 24 Std.: Die zentrale Blutstauung ist deutlicher als zu früheren Zeitpunkten.

nach 48 Std.: In der Umgebung von Zentralvenen findet man häufig unterschiedlich große Bezirke, in denen eine Dissoziation der Leberzellen eingetreten ist. Sie zeigen eine gesteigerte Eosinophilie und eine teils homogene und teils auch schollige Umwandlung des Cytoplasmas. Die Zellkerne fehlen oder sind pyknotisch. Hier ist es also zur Ausbildung von Parenchymzellnekrosen gekommen.

K 20; nach 3 min, 3 u. 24 Std.: Bis auf eine zentrale Blutstauung sind keine wesentlichen krankhaften Veränderungen zu erfassen.

nach 48 Std.: In der Umgebung von Zentralvenen haben sich Gruppen nekrotischer Leberzellen ausgebildet.

- c) Subcutane Injektion von 0,1 ml CCl₄ pro 100 g Körpergewicht.
Nach 24 Stunden Injektion von 100 mg Bilirubin in die Pfortader.

K 21; nach 3 min: In den zentralen Läppchenabschnitten sieht man allenthalben bis in die Intermediärzone reichende, feintropfig verfettete Parenchymzellnekrosen, die in wechselnder Dichte von polymorphkernigen Leukocyten durchsetzt werden.

An der peripheren Grenze liegen ab und zu Gruppen blasig entarteter Leberzellen. In den periportalen Feldern sind die Äste der Pfortader deutlich erweitert; sie enthalten häufig Gallenfarbstoffniederschläge. Weitere Gallenfarbstoffniederschläge lassen sich in fast allen Sinusoiden bis zur Grenze der zentralen Nekrose nachweisen.

nach 3 Std.: Im Bereich der zentralen Massennekrosen deutet sich streckenweise eine Entlastungshyperaemie an.

nach 24 Std.: Die äußeren Abschnitte der zentralen Nekrosen zeigen jetzt eine mehr oder weniger deutlich ausgebildete gallige Imbibition. Im Gegensatz zu den früheren Zeitpunkten finden sich jetzt auch in den Gallengängen der periportalen Felder Gallenfarbstoffniederschläge. Außerdem sind hier lockere, vornehmlich aus eosinophilen Leukocyten bestehende entzündliche Infiltrate vorhanden.

K 22 und
K 23:

Die histologischen Befunde sind zu den einzelnen Zeitpunkten mit den bei K 21 beschriebenen Veränderungen identisch. Netznnekrosen konnten bei keinem der Tiere festgestellt werden.

B. Ergebnisse der Bilirubinbestimmung im Serum (s. auch Tab. 2):

Die vor den Bilirubin-Injektionen durchgeführten Bestimmungen ergaben einen Serumbilirubingehalt zwischen 0,1 und 0,47 mg%. Dabei handelte es sich stets um indirektes (nicht mit Glucuronsäure verestertes) Bilirubin.

1. Vorversuche (K 5, K 13 und K 14):

Die zu verschiedenen Zeitpunkten sowohl nach einer Laparotomie und mehrfacher Relaparotomie als auch nach Injektionen von 20 ml physiologischer Kochsalzlösung in die Pfortader vorgenommenen Bestimmungen ergaben keine signifikanten Abweichungen von den Kontrollwerten. Direktes Bilirubin konnte in keinem Fall festgestellt werden.

2. Hauptserie:

a) Injektion von 50 mg Bilirubin in die Pfortader
(K 2, K 3 und K 4):

5 Minuten nach der Injektion war das Gesamtbilirubin auf Werte zwischen 3,3 und 4,5 mg% angestiegen. Nach 4 Stunden betrug der Gehalt 1,02 bzw. 2,2 mg%. Nach 24 Stunden war bei einem Tier das Gesamtbilirubin mit 0,85 mg% leicht erhöht.

b) Injektion von 100 mg Bilirubin in die Pfortader
(K 7, K 9, K 12, K 15, K 16, K 6, K 11, K 24):

5 Minuten nach der Injektion wurde ein Gesamtbilirubingehalt im Serum zwischen 7,01 und 10,6 mg% bestimmt. Nach 4 Stunden konnte ein Absinken auf Werte zwischen 1,4 - 2,38 mg% nachgewiesen werden. Nach 24 Stunden lag bei allen Tieren das Gesamtbilirubin unter 0,7 mg%.

3. Zusätzliche Kontrollversuche:

a) Injektion von 100 mg Bilirubin in die Ohrvene (K 8):

Innerhalb von 5 Minuten fand sich ein Anstieg des Gesamtbilirubins von 0,3 mg% auf 9,6 mg%. Bereits nach 4 Stunden war ein Absinken des Gesamtbilirubins auf 0,85 mg% festzustellen. Nach 24 Stunden lagen keine Abweichungen vom Normalwert vor.

b) Injektion von 100 mg Bilirubin in die Milz (K 18, K 19 und K 20):

5 Minuten nach der Injektion war ein Gesamtbilirubingehalt im Serum zwischen 5,4 und 5,8 mg% nachweisbar. Nach 4 Stunden lagen die Werte des Gesamtbilirubins zwischen 1,17 und 2,10 mg%. Nach 24 Stunden war das Gesamtbilirubin bei zwei Tieren mit 0,6 bzw. 0,64 mg% noch geringfügig erhöht.

c) Subcutane Injektion von 0,1 ml CCl_4 pro 100 g Körpergewicht. Nach 24 Stunden Injektion von 100 mg Bilirubin in die Pfort- ader (K 21, K 22 und K 23):

Als Ausdruck einer bereits durch die CCl_4 -Injektion entstandenen Leberparenchymschädigung fand sich bei diesen Tieren bereits vor der Bilirubin-Injektion eine Erhöhung des Gesamtbilirubins im Serum mit Werten zwischen 1,06 und 1,78 mg%. 5 Minuten nach der Bilirubin-Injektion war ein Anstieg auf Werte zwischen 16,1 und 18,7 mg% eingetreten. Nach 4 Stunden lag der Bilirubingehalt im Serum zwischen 14,5 und 15,7 mg%. Nach 24 Stunden war das Gesamtbilirubin mit 9,7 bzw. 10,6 mg% noch deutlich erhöht.

Da bei einem Teil der Versuchstiere eine exakte Bestimmung des direkten Bilirubins im Serum durch eine bereits eingetretene Haemolyse nicht möglich war, wurden diese Messungen nicht berücksichtigt.

IV. Diskussion:

1. Welche morphologischen Veränderungen wurden bei den Vorversuchen nachgewiesen?

Bei der Durchsicht der histologischen Befunde fällt zunächst auf, daß regelmäßig und unabhängig von der Versuchsanordnung zu allen Zeitpunkten eine leichte, nur auf die Läppchenzentren beschränkte Blutstauung eingetreten war. Hierbei dürfte es sich am ehesten um den Ausdruck einer leichten, durch die Narkose und operativen Eingriffe bedingten Kreislaufstörung handeln.

Ebenfalls auf die Narkose und die Laparotomie mit nachfolgender Relaparotomie führen wir das Auftreten sog. dunkler Leberzellen zurück. Diese durch eine Verdichtung und gesteigerte Eosinophilie des Cytoplasmas sowie durch Kernpyknosen gekennzeichnete Leberzellveränderung (BÖHM 1932, CLARA 1932, KETTLER 1954) stellt eine zunächst noch reversible Form der Nekrobiose dar, die jedoch in typische Einzelzellnekrosen übergehen kann (CLARA 1932, KETTLER 1954). In tierexperimentellen Untersuchungen am Kaninchen konnte ŠOUSTEK (1959/60) nach größeren Eingriffen im Abdominalraum bei 83 % der Tiere solche dunkle Leberzellen nachweisen.

Aus den Vorversuchen ergibt sich weiterhin, daß die Injektion einer größeren Flüssigkeitsmenge, nämlich 20 ml physiologische Kochsalzlösung, in die Pfortader das Auftreten blasig entarteter Leberzellen zur Folge hat. Hierbei handelt es sich um ein schnell auftretendes massives Zelloedem, das in der Regel eine Zellnekrose einleitet (KETTLER 1952, 1954). Als Ursache ist eine Schädigung der Zellmembran mit nachfolgender Einwässerung anzusehen, Vorgänge, die bei diesen Versuchen durch die plötzliche Überflutung der Leber mit physiologischer Kochsalzlösung bei einer leichten zentralen Stauung leicht erklärbar sind.

Weitere schwerwiegende Veränderungen in der Leber waren auch bei dieser Versuchsreihe nicht aufgetreten. Diese Feststellung ist wichtig für die Beurteilung der bei einer Bilirubin-Injektion in die Pfortader nachgewiesenen Befunde.

2. Welche morphologischen Befunde ergaben sich nach den Bilirubin-Injektionen?

a) Kreislaufstörungen:

Wie bei den Vorversuchen fand sich auch in dieser Serie bei allen Tieren eine mehr oder weniger stark ausgeprägte zentrale Stauung.

b) Regressive Veränderungen (Nekrobiosen und Nekrosen):

Bei 7 Tieren (K 8, K 19, K 4, K 9, K 15, K 6, K 11) waren vornehmlich 3 Stunden nach der ersten Laparotomie verstreut angeordnete dunkle Leberzellen zu erkennen, die ebenfalls bei den Vorversuchen beobachtet wurden.

Ohne sichere Beziehung zum Ort der Bilirubin-Injektion waren bei 5 der 15 Kaninchen ohne vorherige CCl_4 -Injektion nach 24 bzw. 48 Stunden unterschiedlich große, vorwiegend zentroacinär angeordnete Gruppennekrosen entstanden, und zwar bei 2 von 3 Tieren nach einer Injektion von 100 mg Bilirubin in die Milz (K 19 und K 20), bei einem von 3 Tieren nach einer Injektion von 50 mg Bilirubin in die Pfortader (K 4) und bei 2 von 8 Tieren nach einer Injektion von 100 mg Bilirubin in die Pfortader (K 9 und K 15).

Übereinstimmend waren die betroffenen Bezirke bei intakten Sinusoiden durch dissoziierte Leberzellen mit einer gesteigerten Eosinophilie und homogenen Umwandlung des Cytoplasmas sowie durch einen Kernverlust oder durch Kernpyknosen gekennzeichnet. Gleichzeitig lag eine unterschiedlich dichte leukocytaire Infil-

tration vor. Diese zentralen Nekrosen, die von ROZDILSKY (1961) nach intravenösen Bilirubin-Injektionen bereits nach 9 Stunden vorgefunden wurden, entsprachen in ihrer Lage und nach den morphologischen Veränderungen sog. Schocknekrosen. Für das Zustandekommen dieser Schocknekrosen in der Leber müssen nach POPPER (1961) fünf Ursachen in Betracht gezogen werden: ein sekundär-traumatischer Schock, ein Operationsschock, ein haemorrhagischer Schock, ein Schock bei einer akuten Herzinsuffizienz und ein toxischer Schock. Von diesen Faktoren können in Verbindung mit den Vorversuchen und den Sektionsbefunden zumindest die ersten drei genannten Schockformen ausgeschlossen werden. Dagegen kann mit großer Wahrscheinlichkeit angenommen werden, daß durch die hohen Bilirubin-Injektionen bei den Tieren je nach der Gesamtkonstitution ein mehr oder weniger schwerer toxischer Schock hervorgerufen wurde. Diese Annahme wird durch die Tatsache unterstrichen, daß die Tiere, wie bereits eingangs erwähnt, auf die Bilirubin-Injektion mit einer erheblichen Tachycardie und Tachypnoe reagierten, was auch von anderen Autoren beobachtet wurde (u. a. ROZDILSKY 1961). Daneben kann allerdings nicht ausgeschlossen werden, daß eine durch den plötzlichen Anstieg des Serumbilirubins bedingte Myokardschädigung (PARI 1910, ROZDILSKY 1961) beim Zustandekommen der Schocknekrosen in der Leber mit beteiligt ist.

Von den Schocknekrosen unterschieden sich zentrale Massennekrosen, die bei allen Tieren 24 Stunden nach einer einmaligen CCl₄-Injektion - also bereits bei der ersten Probeexcision - vorgefunden wurden. Hier wiesen die Leberzellen neben einer teils homogenen, teils auch scholligen Umwandlung sowie gesteigerten Eosinophilie des Cytoplasmas eine deutliche fein- bis mitteltropfige Verfettung auf. An der Peripherie der Nekrosen fanden sich blasig entartete Leberzellen. Damit bestand eine völlige Übereinstimmung zu Befunden, wie sie für eine CCl₄-Vergiftung charakteristisch sind (u. a. MYREN und VINJE 1952, KETTLER 1954, POPPER 1961).

Diese Nekrosen wiesen zunächst keine Zeichen einer Cholestase auf. Erst 24 Stunden nach der Bilirubin-Injektion war eine von außen zum Zentrum vordringende gallige Imbibition festzustellen. Bei den "einfachen" Bilirubin-Injektionen in die Pfortader, in die Milz oder in die Ohrvene traten diese zentralen Massennekrosen nicht auf.

Besonderes Interesse verdient schließlich das Auftreten von Netznekrosen bei 3 Tieren nach einer Injektion von 100 mg Bilirubin in die Pfortader (K 6, K 11 und K 24). Die ersten Stadien dieser Form der Leberzellschädigung waren bei einem Tier bereits 5 Minuten nach der Injektion (K 6) zu erkennen. Dabei sah man in unmittelbarem Kontakt zu intrasinusoidalen Gallenfarbstoffniederschlägen kleine Leberzellgruppen, die ein auffallend helles, nur schwach anfärbbares Cytoplasma mit feinfädigen oder feingranulären Strukturen besaßen. Zu späteren Zeitpunkten waren oft in direktem Kontakt zu periportalen Feldern und gelegentlich zur Zentralvene ausgerichtet, von der Umgebung scharf abgegrenzte Herde entstanden, die mit optisch nahezu leeren Leberzellen bei ungewöhnlich deutlichen Zellgrenzen und erhaltenen Sinusoiden wabige bzw. netzförmige Strukturen zeigten. Diese Herde schlossen manchmal ekstatische Sinusoide oder kleine Haemorrhagien ein. In peripheren Zellen traf man ab und zu auf feinste Fetttropfen. Zu späteren Zeitpunkten war mehrfach eine gallige Imbibition zu beobachten. Eine entzündliche Umgebungsreaktion ließ sich in der Regel nicht nachweisen. Damit besteht eine weitgehende Übereinstimmung zu den von anderen Autoren erhobenen Befunden (u. a. CHARCOT und GOMBAULT 1876, SAUERHERING 1894, TISCHNER 1904, HIYEDA 1925, LOEFFLER 1927, KIKUCHI 1934/35, HEIMANN 1965)

Netznekrosen sind seit der zweiten Hälfte des vorigen Jahrhunderts bekannt. Sie wurden regelmäßig nach experimenteller Unterbindung des Ductus choledochus bei Ratten, Tauben, Meerschweinchen und Kaninchen, niemals dagegen bei Frosch, Hund oder Katze

(OGATA 1913, CAMERON und OAKLEY 1932, STEINER, CARRUTHERS und KALIFAT 1962) beobachtet.

Fast identische Veränderungen können auch nach der Unterbindung der A. hepatica (TISCHNER 1904), nach Verschuß der Pfortader (STEINER und MARTINEZ 1961), nach einer Lebervenen-sperre (KETTLER 1954), nach Galleinjektionen in den Ductus choledochus (EDLUND und GELIN 1962) sowie nach Vergiftung mit Allylformiat und Histamin (GLOGGENGIESSER 1944) und Brechweinstein (CAMERON, KARUNARATNE und THOMAS 1937) auftreten. Während die Beschreibung der Netznekrosen bei den einzelnen Autoren eine weitgehende Übereinstimmung zeigt, wurden für diese Veränderungen unterschiedliche Bezeichnungen verwendet. So fanden wir in der uns zur Verfügung stehenden Literatur folgende Synonyme:

Taches claires (CHARCOT und GOMBAULT 1876),
Nekrose mit glasartiger Degeneration (SAUERHERING 1894),
Netzbezirke (TISCHNER 1904),
sog. Netznekrose (HIYEDA 1925, KIKUCHI 1934/35, KETTLER 1954),
Charcot-GOMBAULT-Nekrose (CAMERON und OAKLEY 1932),
Reticuläre Nekrose (MATSOMUTO 1960, POPPER 1961,
POPPER und SCHAFFNER 1961),
Biliäre Nekrose (HEIMANN 1965).

Ähnlich wie bei unseren Versuchen konnten auch nach einem experimentellen Verschuß des Ductus choledochus gelegentlich bereits 10 Minuten nach dem Eingriff Netznekrosen nachgewiesen werden (TISCHNER 1904). Sie fanden sich jedoch in der Regel bei dieser Versuchsanordnung erst nach 2 - 3 Stunden (HIYEDA 1925, HEIMANN 1965) oder später (LOEFFLER 1927).

Die Angaben über das Schicksal der Netznekrosen sind uneinheitlich. Ein Teil der Autoren berichtet über einen Ersatz durch gewuchertes Bindegewebe oder durch gewucherte Gallengänge, andere sahen beide Vorgänge nebeneinander ablaufen (Literatur bei KIKUCHI 1934/35). Nach LOEFFLER (1927) und

HEIMANN (1965) tritt dagegen innerhalb der Netznnekrosen eine Verflüssigung mit Auflösung und nachfolgender Resorption der Leberzellen ein, die besonders bei größeren Herden ein unregelmäßiges feines Netzwerk wie bei einem Gerüstkollaps hinterlassen kann. HIYEDA (1925) und KIKUCHI (1934/35) vertreten schließlich die Meinung, daß die Mehrzahl der Netznnekrosen rückbildungsfähig sind, also keine echten Nekrosen darstellen.

Aus den eigenen Versuchen geht hervor, daß das Schicksal der Netznnekrosen durchaus verschieden sein kann. So fanden wir gelegentlich 24 - 48 Stunden nach der Bilirubin-Injektion Netznnekrosen, die zwar auffallend deutliche Zellgrenzen aufwiesen, jedoch ein schwach anfärbbares und geringgradig strukturiertes Cytoplasma sowie gut erhaltene Kerne besaßen. Hier bestand der Eindruck, als sei eine Rückbildung in Gang gekommen. Daraus wäre zu folgern, daß Leberzellgruppen, die morphologisch das Bild "typischer Netznnekrosen" zeigen, noch keinesfalls irreversibel geschädigt sein müssen, sondern vielmehr eine Restitutio grundsätzlich möglich ist.

In der Mehrzahl war jedoch zu späteren Zeitpunkten im Bereich von Netznnekrosen eine Auflösung der geschädigten Zellen zu erkennen, die schließlich zur Ausbildung unregelmäßiger Trümmerzonen führte. Dabei ließ sich in diesen Gebieten sowohl eine Ektasie der Sinusoide nach Art einer Entlastungshyperaemie als auch ein Gerüstkollaps nachweisen.

Schließlich war es bei einem Teil der Netznnekrosen zu einer sekundären, partiellen oder völligen galligen Imbibition gekommen. Gleichzeitig bildete sich dabei eine Strukturverdichtung des Cytoplasmas aus, die mit einer gesteigerten Anfärbbarekeit mit Eosin einherging. Hier bestand aufgrund des morphologischen Bildes der Eindruck, als fände ein Übergang in eine sog. Koagulationsnekrose statt.

Wie ist das Zustandekommen von Netznekrosen zu erklären?

Noch vielfältiger als die Bezeichnungen sind die Theorien, die für das Zustandekommen von Netznekrosen aufgestellt werden. Im wesentlichen werden in der Literatur folgende Ansichten vertreten:

Chemisch-toxische Wirkung der aus geplatzten Gallenwegsan-
teilen ausgetretenen Galle (CHARCOT und GOMBAULT 1876, HIYEDA 1925,
KIKUCHI 1934/35, EDLUND und GELIN 1962).

Mechanische Wirkung durch stagnierende Galle in Galleröhrchen
(FOA und SALVIOLI 1877, JANSON 1895).

Chemische Wirkung der im Cytoplasma von Leberzellen stagnieren-
den Galle (GERHARDT 1892, OGATA 1913).

Druckanstieg in Galleröhrchen und chemisch-toxische Gallenwirkung
(SAUERHERING 1894, R. HEIMANN 1965).

Zirkulationsstörungen im Bereich der Interlobulararterien
(CHAMBARD 1877).

Kompression der Sinusoide durch ausgetretene Galle und erweiterte
Galleröhrchen (BELOUSSOW 1881, JANOWSKY 1892, TSUNODA 1908).

Zirkulationsstörungen im Bereich der Pfortaderäste und der
Sinusoide (TISCHNER 1904).

Intrahepatische Zirkulationsstörungen durch Reizung der Gefäß-
nerven (LOEFFLER 1927).

Zirkulationsstörungen durch Schwellung der Kupffer'schen Stern-
zellen sowie fokale Permeabilitätsstörungen der Leberzellmem-
branen (STEINER, CARRUTHERS und KALIFAT 1962).

Schon aus dieser Aufstellung geht hervor, daß die Pathogenese
der Netznekrosen noch nicht geklärt ist. Immerhin ergeben sich
unter Berücksichtigung der bisherigen Versuchsergebnisse sowie
der eigenen Untersuchungen einige wichtige Hinweise: So kann
als gesichert gelten, daß Netznekrosen nur dann auftreten, wenn
sich in der Leber die morphologischen Zeichen einer deutlichen
Cholestase nachweisen lassen. Dabei ist es gleichgültig, ob die

Cholestase extra- oder intrahepatisch bedingt ist. Die Netznekrosen zeigen weiterhin auffällige topographische Beziehungen zu periportalern Feldern mit Gallenfarbstoffniederschlägen oder zu Gallenfarbstoffniederschlägen im übrigen Leberparenchym. Eine initiale gallige Imbibition der Netznekrosen liegt nicht vor. Sie findet - keineswegs generell - erst zu späteren Zeitpunkten statt.

Von Bedeutung zum Verständnis der Pathogenese erscheint uns weiterhin die Tatsache, daß nicht bei allen Versuchstieren nach einer Unterbindung des Ductus choledochus Netznekrosen entstehen. Sie finden sich zwar regelmäßig bei der Ratte, dem Meerschweinchen, der Taube und insbesondere beim Kaninchen; sie fehlen dagegen beim Frosch, der Katze und dem Hund (KIKUCHI 1934/35, CAMERON, GRIFFITHS und MUZAFAR-HASAN 1957, STEINER, CARRUTHERS und KALIFAT 1962). Dabei fällt auf, daß die erste Tiergruppe viel Galle bei geringem Druck, die zweite Gruppe dagegen wenig Galle bei hohem Druck produziert. So ist bekannt, daß die Menge der pro Zeiteinheit vom Hund produzierten Galle 6 - 7mal geringer ist als beim Kaninchen (HEIDENHAIN 1880). Es wäre denkbar, daß bei den Tieren, die bereits normalerweise viel Galle produzieren, die Ausbildung einer Cholestase schneller eintritt und die Folgen entsprechend schwerwiegender sind.

Bei einem Vergleich der bisherigen Angaben möchten wir annehmen, daß für die Entstehung der Netznekrosen ein Kontakt der Leberzellen mit gestauter oder atypisch zusammengesetzter Galle bzw. mit konzentriertem indirekten Bilirubin notwendig ist. Dadurch kommt es - wie auch von anderen Autoren angenommen wird (PARI 1910, ROZDILSKY 1961, STEINER, CARRUTHERS und KALIFAT 1962) - zu einer Durchlässigkeitsstörung der Zellmembran mit Ausbildung

eines schweren intrazellulären Oedems. Das Zelloedem führt dann - ähnlich wie bei der blasigen Entartung (u. a. KETTLER 1950, 1952, 1954) - zu dem charakteristischen morphologischen Erscheinungsbild mit einer weitgehend aufgehobenen Anfärbbarkeit der Cytoplasmastrukturen. Dementsprechend ist die Netznekrose der Gruppe der hydropischen Leberzellschädigungen zuzuordnen, was bereits von OGATA (1913) und LOEFFLER (1927) angenommen wurde. Den Beweis dafür erbrachten elektronenmikroskopische Untersuchungen von MATSUMOTO (1966), aus denen hervorgeht, daß am Beginn einer Netznekrose eine vakuolige Umwandlung des endoplasmatischen Reticulum und später eine Auflösung aller Zellorganellen mit Ausnahme der Zellmembran eintritt. Gleichzeitig wird dadurch auch verständlich, daß trotz eindrucksvoller morphologischer Veränderungen die Netznekrose - jedenfalls solange die Zellmembranen erhalten sind - keinesfalls zwangsläufig Ausdruck einer irreversiblen Zellschädigung sein muß. Es wäre vielmehr durchaus denkbar, daß ein Übergang in das irreversible Stadium der Nekrobiose erst durch zusätzliche Faktoren, wie umschriebene intrahepatische Zirkulationsstörungen oder ein Eintritt von Gallenbestandteilen in die vorgeschädigten Zellen begünstigt wird.

Sowohl in der Art der Entstehung als auch morphologisch bestehen demnach gewisse Übereinstimmungen zwischen hydropischen Zellveränderungen nach Art einer blasigen Entartung und den Netznekrosen. Beide sind morphologisch im wesentlichen durch eine deutlich verminderte Anfärbbarkeit des Cytoplasmas und einen Schwund der Feinstrukturen gekennzeichnet. Auf den ersten Blick könnte daher der Eindruck entstehen, es handele sich um dieselbe Form der Leberzellschädigung. Dies ist jedoch nach unseren Beobachtungen nicht der Fall; wir halten es vielmehr für notwendig, diese beiden Veränderungen eindeutig von-

einander zu trennen. Für diese Auffassung lassen sich folgende formal- und causalgenetische Gründe anführen:

- aa) Eine blasige Entartung der Leberzellen entsteht vornehmlich im Läppchenzentrum, in der Intermediärzone sowie in der unmittelbaren Umgebung größerer Leberparenchymzellnekrosen (KETTLER 1952, 1958). Netznekrosen bilden sich dagegen in der Regel in engem Kontakt zu periportalern Feldern aus.
- bb) Blasig entartete Leberzellen sind erheblich geschwollen und durch eine feinstschaumige bzw. wasserklare Cytoplasmastruktur und pyknotische Kerne gekennzeichnet (KETTLER 1952, 1958). Eine auffallend deutliche Darstellung der Zellgrenzen ist nicht zu beobachten. Netznekrosen weisen dagegen auffallend deutlich anfärbbare Zellgrenzen auf. Sie zeigen nur eine geringe oder mäßiggradige Schwellung. Kernpyknosen sind bei ihnen selten.
- cc) Im Experiment läßt sich eine blasige Entartung mit großer Regelmäßigkeit durch Vergiftung mit Tetrachlorkohlenstoff, Phenylhydracin und Kokain (KETTLER 1958) hervorrufen. Netznekrosen finden sich dagegen fast ausschließlich nur in Verbindung mit einer extra- oder intrahepatischen Cholestase.

c) Gallenfarbstoffniederschläge:

Während die bisher geschilderten Veränderungen auf keine direkte Auswirkung der Bilirubin-Injektion auf die Leber zurückzuführen sind, wiesen weitere Befunde einen direkten Zusammenhang zu den Bilirubin-Injektionen auf.

So konnten erstens als direkte Folge einer Injektion von 100 mg Bilirubin in die Milz oder in die Pfortader bei 8 Tieren (K 18, K 19, K 6, K 11, K 24, K 21, K 22 und K 23) vornehmlich bereits nach 5 Minuten, spätestens jedoch nach 3 Stunden zumindest vorübergehend Gallenfarbstoffniederschläge in erweiterten Sinusoidabschnitten der Läppchenperipherie festgestellt werden. Sie waren am deutlichsten bei Tieren mit einer vorangegangenen CCl_4 -Injektion ausgeprägt und stellten sich bei dieser Versuchsanordnung auch in Ästen der Pfortader dar.

Wie ist das Zustandekommen der Gallenfarbstoffniederschläge in erweiterten Sinusoiden bei unserer Versuchsanordnung zu erklären?

Eine verbindliche Antwort ist auf Grund der vorliegenden Versuche nicht möglich. Immerhin verdienen zwei Tatsachen Beachtung. Erstens fällt auf, daß die Gallenfarbstoffniederschläge in Sinusoiden nur nach Injektion von 100 mg Bilirubin in die Milz oder in die Pfortader festgestellt werden konnten, bei Versuchsbedingungen also, bei denen das Bilirubin in hoher Konzentration direkt in die Leber gelangte. Zweitens fällt auf, daß die Niederschläge stets in der Läppchenperipherie, d. h. im Anfangsteil der Sinusoide, vorgefunden wurden. Berücksichtigt man ferner, daß das injizierte indirekte Bilirubin nur wie in unseren Injektionslösungen bei einem alkalischen pH-Wert oder - wie im Organismus - durch eine Bindung an Serumalbumin (WESTPHAL und GEDIGK 1948, 1949, WESTPHAL, OTT und GEDIGK 1950, GEDIGK und GRIES 1952, GRIES, GEDIGK und GEORGI 1954, GEDIGK 1960) löslich ist, so wäre folgender Vorgang denkbar:

Durch die Pufferungsfähigkeit der Blutflüssigkeit wird der pH-Wert der Injektionslösung in kürzester Zeit zum Neutral-

punkt hin verändert. Da aber bei der genannten Versuchsanordnung die für die Bindung der relativ hohen Bilirubinkonzentration notwendige Menge an Serumalbumin zumindest vorübergehend nicht zur Verfügung steht, kommt es zur Ausbildung von Gallenfarbstoffniederschlägen. Begünstigend dürften dabei intrahepatische Zirkulationsstörungen mit einer Strömungsverlangsamung wirken, weil dadurch die Verdünnung der Bilirubinkonzentration verzögert wird. Für intrahepatische Zirkulationsstörungen sprechen nicht nur der regelmäßige Nachweis einer zentralen Blutstauung in der Leber, sondern auch die stets vorhandene Ektasie der Sinusoide im Bereich von Farbstoffniederschlägen.

Unterstützt wird diese Annahme auch durch die Befunde nach einer vorangegangenen CCl_4 -Injektion. Hier waren bereits zum Zeitpunkt der Bilirubin-Injektion in die Pfortader ausgedehnte zentrale Lebernekrosen entstanden, die eine erhebliche Beeinträchtigung der Leberdurchblutung bedingten. Gerade bei diesen Tieren waren in erhaltenen peripheren Läppchenanteilen fast in allen Sinusoiden massive Gallenfarbstoffniederschläge vorhanden. Daneben konnten hier sogar in erweiterten Pfortaderästen Farbstoffniederschläge festgestellt werden.

Bei 6 Tieren fanden sich zweitens nach einer Injektion von 100 mg Bilirubin in die Pfortader Gallenfarbstoffniederschläge in Bindegewebsspalten der periportal en Felder sowie in einem Teil der Gallengänge, die ab und zu Epitheldefekte zeigten. Gleichzeitig war eine vornehmlich aus eosinophilen Leukocyten bestehende entzündliche Infiltration der periportal en Felder eingetreten. Diese Veränderungen hatten sich bei 3 Tieren bereits nach 3 Stunden, bei 3 Tieren mit vorausgegangener CCl_4 -Injektion dagegen erst innerhalb von 24 Stunden entwickelt. Zusätzlich ließen sich bei einem Teil dieser Tiere gallige Leberzellnekrosen und gelegentlich auch sog. Galleinfarkte nachweisen. Dabei handelte es sich um die Folgen eines Galleaustrittes aus einem periportal en Feld in das angrenzende Leberparenchym. In solchen - in der Regel

seitlich scharf begrenzten - Bezirken kommt es zur galligen Nekrose sowohl der Leberzellen als auch der Kupffer'schen Sternzellen.

Hier bestanden also zusätzlich Veränderungen, wie sie für die Folgen einer Gallenabflußstörung kennzeichnend sind. Da die extrahepatischen Gallenwege frei durchgängig waren, muß dabei das Vorliegen einer intrahepatischen Cholestase (POPPER 1961) angenommen werden. Dieser Autor (1961, 1964) führt als Ursache für das Zustandekommen einer intrahepatischen Cholestase im wesentlichen folgende Faktoren an: herabgesetzte sekretorische Leistung der Leberzellen, übermäßige Wasserretention, Bildung abnorm zusammengesetzter Galle, Galleaustritt aus den Schaltstücken mit nachfolgender entzündlicher Reaktion und Veränderungen im Bereich der die Galleröhrchen begrenzenden Mikrovilli mit gesteigerter Permeabilität. Von diesen Faktoren ist bei unseren Versuchen am ehesten die Bildung einer abnormen Galle bei gleichzeitig verminderter sekretorischer Leistung der Leberzellen in Betracht zu ziehen, zumal GEBHARDT (1939) nachwies, daß nach einer hohen Bilirubinbelastung des Organismus in der Galle indirektes Bilirubin auftreten kann und bekannt ist, und daß ein gesteigerter Gehalt an Gallensubstanzen im Blut eine toxische Leberzellschädigung zur Folge haben kann (POPPER 1961). Beide Faktoren könnten einzeln oder kombiniert zu den beschriebenen Gallenfarbstoffniederschlägen führen, die übrigens bereits EPPINGER (1937) auch bei schweren haemolytischen Anaemien vorfand.

Es liegt auf der Hand, daß durch die Niederschläge innerhalb der Gallenwege ein partieller oder totaler Verschuß hervorgerufen werden kann, der einerseits eine Gallenstauung mit nachfolgendem Austritt von Bilirubin in die periportalen Felder und das Parenchym verursachen und andererseits durch den direkten Übertritt von Gallenfarbstoff in die Sinusoide oder durch die Aufnahme in die Lymphspalten ein vorübergehendes Auftreten von direktem Bilirubin im Serum zur Folge haben kann (u. a. EPPINGER

1902, KETTLER 1958, WITH 1960, POPPER 1961). Von Interesse sind in diesem Zusammenhang tierexperimentelle Untersuchungen von HOUSSET, ETIENNE und BARBÉ (1965), aus denen hervorgeht, daß durch Anlage einer Gallengangs-Vena jugularis-Fistel oder durch ein experimentelles Choleperitoneum ein voll ausgebildetes Cholestase-Syndrom entsteht.

3. Welche Ergebnisse konnten bei der Bestimmung des Serum-bilirubins erhoben werden?

Bei den Kontrolluntersuchungen fanden wir im Serum einen Gesamtbilirubingehalt zwischen 0,1 und 0,47 mg%. Die Angaben über den normalen Bilirubinspiegel im Kaninchenserum sind nicht einheitlich. Ein Teil der Autoren gibt an, daß im Kaninchenserum in der Regel kein Bilirubin nachweisbar ist (u. a. HIJMANS VAN DEN BERGH 1928, F. HEIMANN 1933, HELLER 1933, WITH 1960). Andere Untersucher geben Normwerte zwischen 0,35 und 0,5 mg% an (LOPEZ-GARCIA, ZELASCO und PEFACE 1943, WESTPHAL und GEDIGK 1949). Da sich unsere Werte stets reproduzieren ließen, möchten wir annehmen, daß sie im Bereich der üblichen Streubreite liegen.

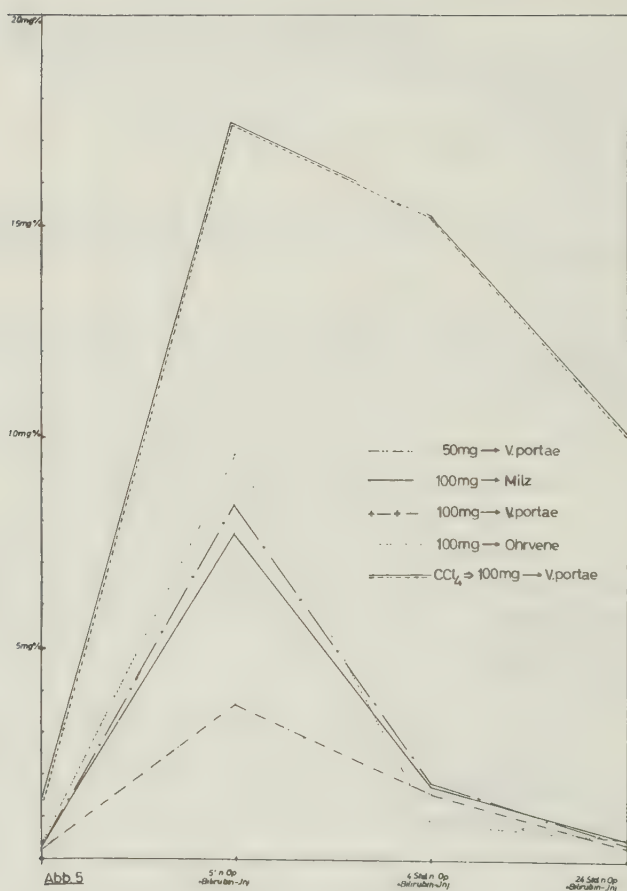
Bei der Hauptserie ergaben die Bilirubinbestimmungen deutliche Beziehungen zur Menge des injizierten Bilirubins und zum Ort der Injektion. Mit Ausnahme der Tiere, bei denen eine CCl_4 -Injektion vorangegangen war, wurden die höchsten Werte jeweils 5 Minuten nach der Injektion gemessen. Dabei ergab sich folgende Reihenfolge (siehe Abb. 5 und Tabelle 2):

- a) 5 Minuten nach 100 mg Bilirubin in die Pfortader: 7,01-10,6 mg%
- b) 5 Minuten nach 100 mg Bilirubin in die Ohrvene: 9,6 mg%
- c) 5 Minuten nach 100 mg Bilirubin in die Milz: 5,4 - 5,8 mg%
- d) 5 Minuten nach 50 mg Bilirubin in die Pfortader: 3,3 - 4,5 mg%

Tabelle 2

Gesamtbilirubin im Serum in mg%

Vers.- Nr.	Art des Versuches			Vor d. Op. bzw. Bili- rubin-Inj.	5' n.d.Op. bzw. Bili- rubin-Inj.	4 ^h n.d.Op. bzw. Bili- rubin-Inj.	24 ^h n.d.Op. bzw. Bili- rubin-Inj.
Vorversuche	a K 5	Laparotomie und Relaparotomie ohne Bilirubin-Injektion		0,32	0,34	0,34	0,3
	b K 13	20 ml physiol. Kochsalzlösung i. d. V. portae		0,3	0,5	0,5	0,4
	K 14	"		0,4	0,38	0,34	0,34
Hauptversuche	a K 2	50 mg Bilirubin in die Pfortader		0,34	4,5	1,02	0,25
	K 3	"		0,38	3,5	-	-
	K 4	"		0,34	3,3	2,2	0,85
	b K 7	100 mg Bilirubin in die Pfortader		0,46	9,6	1,9	0,3
	K 9	"		0,3	9,7	2,1	0,2
	K 12	"		0,3	10,6	1,4	0,2
	K 15	"		0,6	7,01	1,6	0,5
	K 16	"		0,45	7,1	1,7	-
	K 6	"		0,17	8,3	1,7	0,3
	K 11	"		0,24	7,1	1,7	0,2
	K 24	"		0,28	8,07	2,38	0,6
Zusätzliche Kontrollversuche	a K 8	100 mg Bilirubin in die Ohrvene		0,3	9,6	0,85	0,5
	b K 18	100 mg Bilirubin in die Milz		0,47	5,4	2,1	0,7
	K 19	"		0,3	5,7	1,95	0,64
	K 20	"		0,46	5,8	1,17	0,34
	c K 21	1 ml CCl ₄ /kg Körpergew. subc., 24 h später 100 mg Bilirubin in die Pfortader		1,78	17,6	15,5	10,6
	K 22	"		1,4	18,6	15,7	9,7
	K 23	"		1,06	16,1	14,5	-



Die relativ niedrigen Werte nach Bilirubin-Injektionen in die Milz sind wohl damit zu erklären, daß ein Teil des Bilirubins die Milz nicht verläßt, sondern von Zellen des RES gebunden wird. Bei allen Tieren ohne vorangegangene CCl_4 -Injektion war bereits 4 Stunden nach der Bilirubin-Injektion ein steiler Abfall des Bilirubinspiegels im Serum festzustellen, nach 24 Stunden wurden bei keinem der Tiere Werte über 1,0 mg% gemessen. Der steile Anstieg sowie der nachfolgende schnelle Abfall des Bilirubingehaltes wurde auch von anderen Autoren mehrfach beschrieben (u. a. SCHOLDERER 1933, WESTPHAL und GEDIGK 1949, KÜHN, SCHNEIDER und SPITZMÜLLER 1954, DRAGSTEDT und MILS 1957, GEDIGK 1960, WITH 1960, ROZDILSKY 1961).

Anders liegen die Verhältnisse nach vorangegangener CCl_4 -Injektion. Hier wurde bereits vor der 24 Stunden später durchgeführten Bilirubin-Injektion ein erhöhter Bilirubingehalt im Serum mit Werten zwischen 1,06 - 1,78 mg%, davon nahezu 50 % direktes Bilirubin festgestellt. Der 5 Minuten nach der Bilirubin-Injektion festgestellte Gehalt an Gesamtbilirubin im Serum liegt mit 16,1 - 18,7 mg% weit über den Werten bei anderer Versuchsanordnung. Gleichzeitig war bei diesen Tieren eine wesentlich verlangsamte Abnahme des Bilirubingehaltes nachweisbar. Selbst nach 24 Stunden wurden noch Werte von 9,7 bzw. 10,6 mg% gemessen. Daraus ist zu schließen, daß die Exkretionsfähigkeit der Leber durch die CCl_4 -Vergiftung weit aus mehr geschädigt wird als durch eine alleinige hohe intravasale (und intraportale) Bilirubin-Injektion.

Schließlich ist noch bemerkenswert, daß sich die Bilirubinwerte im Serum bei Tieren mit Netzhnecrosen nicht wesentlich von denen der anderen Tiere unterschieden.

Die Bestimmungen des "direkten", d. h. an Glukuronsäure gekoppelten Bilirubins ergaben wegen der häufig auftretenden Haemolyse der Seren keine verwertbaren Ergebnisse.

V. Zusammenfassung:

Durch hohe Bilirubin-Injektionen in die Blutbahn und insbesondere in die Milz und die Pfortader können in der Leber des Kaninchens zwei verschiedene Formen der Leberparenchymschädigung entstehen.

Als Ausdruck einer Allgemeinintoxikation können bevorzugt in den zentralen Läppchenabschnitten Leberparenchymsnekrosen auftreten, die in ihrem Verhalten Koagulationsnekrosen entsprechen und als Schocknekrosen zu deuten sind.

Daneben gelingt es, mit hohen Bilirubin-Injektionen in die Pfortader bei einem Teil der Tiere das typische Bild einer intrahepatischen Cholestase mit galligen Nekrosen und gelegentlich auch "Galleinfarkten" zu erzeugen.

In Verbindung mit dieser intrahepatischen Cholestase traten schließlich typische Netznnekrosen auf. Die Netznnekrosen werden als Sonderform der hydropischen Degeneration gedeutet; sie sind z. T. rückbildungsfähig. Vornehmlich jedoch kommt es ohne wesentliche entzündliche Begleitreaktion zu einer Auflösung und Resorption der geschädigten Zellen. Daneben ist jedoch auch in Verbindung mit einer später eintretenden galligen Imbibition ein Übergang in eine Koagulationsnekrose möglich.

Als Ursache für das Zustandekommen von Netznnekrosen wird eine Schädigung der Zellmembranen durch einen direkten Kontakt mit konzentrierten Gallenbestandteilen bzw. konzentriertem direkten Bilirubin angenommen.

Bei den Bestimmungen des Serum-Bilirubingehaltes nach Bilirubin-Injektionen zeigte sich ein steiler Anstieg mit einem nachfolgenden schnellen Abfall zur Norm, sofern keine Tetrachlorkohlenstoff-Injektion vorausgegangen war.

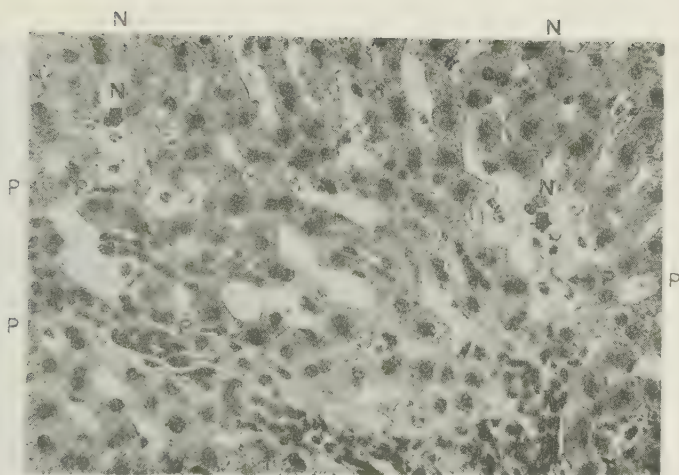


Abb. 1

K 6 a: 5 min nach 100 mg Bilirubin in die Pfortader:
Erweiterte periphere Sinusoide, z.T. mit Pigment-
niederschlägen (P) und beginnenden Netznekrosen (N).
8/25 etwa 400fach.

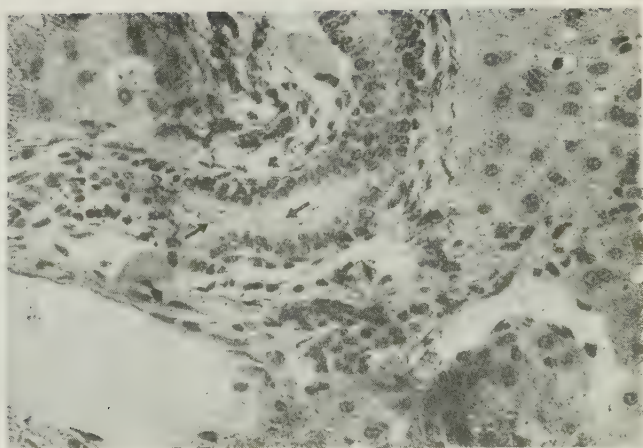


Abb. 2

K 6 a: 5 min nach 100 mg Bilirubin in die Pfortader:
Pigmentniederschlag im Gallengang ➤
8/25 etwa 400fach.

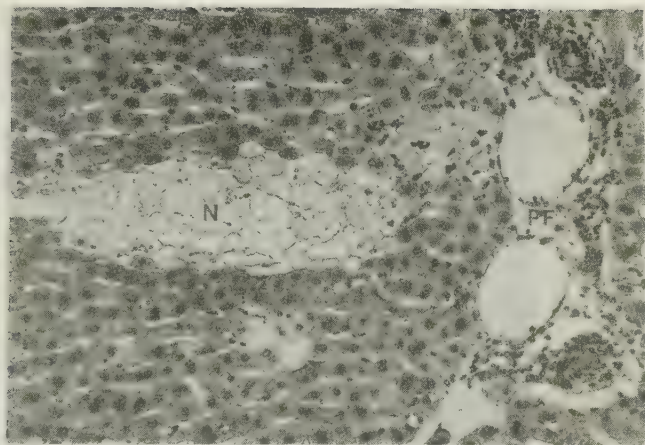


Abb. 3

K 6 b: 3 Std. nach 100 mg Bilirubin in die Pfortader:
 Typische Netznekrose (N) in Kontakt mit peri-
 portalem Feld (PF).
 8/16 etwa 260fach.

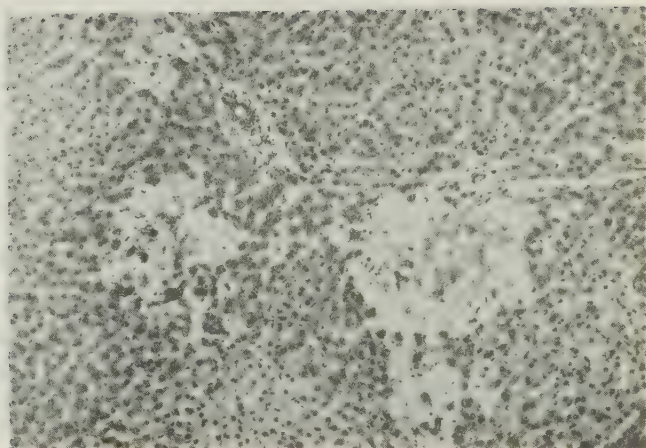


Abb. 4

K 24 b: 3 Std. nach 100 mg Bilirubin in die Pfortader:
In Auflösung begriffene Netznekrosen.
8/10 etwa 160fach.

VI. Literaturverzeichnis

- ARTELT, W., E. HEISCHKELE u. K. WEHMER: Periodica medica.
Titelabkürzungen medizinischer Zeitschriften. Vierte neubearbeitete und erweiterte Auflage.
Thieme-Verlag, Stuttgart, 1952
- BELOUSSOW, P.N.: Über die Folgen der Unterbindung des Ductus choledochus.
Arch. exp. Path. Pharmak., Leipzig, 14,
200 - 211, 1881
- BERMAN, A.L., E. SNAPP and A.C. IVY: The Effect of Choleresis on the Rate of Excretion of intravenous injected Bilirubin.
Amer. J. Physiol. 132, 176 - 184, 1941
- BÖHM, J.: Beiträge zur Kenntnis der dunklen Zellen in der Leber.
Zschr. Zellforsch., Berlin 15, 272 - 289, 1932
- CABELLO RUZ, J.: El higado en la fijación de la bilirubina y modificación de su diazorreación.
Rev. Soc. argent. biol. 19, 16 - 20, 1943
- CAMERON, G.R. and C.L. OAKLEY: Ligation of the Common Bile Duct.
J. Path. Bact. 35, 769 - 798, 1932
- , W.A.E. KARUNARATNE and J.C. THOMAS: Massive Necrosis ("Toxic Infarction") of the Liver following intraportal Administration of Poisons.
J. Path. Bact. 44, 297 - , 1937
- , D.B. GRIFFITH and S.M. HASAN: Liver necrosis following Obstruction of the Common Bile Duct.
J. Path. Bact. 74, 327 - 333, 1957
- CANTAROW, A., C. WIRTS jr., W.S. SNAPE and L.J. MILLER: Excretion of Bilirubin and Bromsulphalein in Bile.
Amer. J. Physiol. 154, 211 - 219 u. 507 - 512, 1948
- CHAMBARD, E.: Contribution à L'etude de lésion histologique du foie.
Arch. physiol., Paris 2, 718 - , 1877
zit. n. Gerhardt

- CHARCOT e GOMBAULT: Note sur les Altérations du foie consécutives a la ligature du canal cholédoque.
Arch. physiol., Paris 8, 272 - 299, 1876
- CLARA, M.: Bau und Bedeutung der dunklen Leberzellen. Morphologische und experimentelle Untersuchungen an der Kaninchenleber.
Zschr. mikrosk.-anat. Forsch., Leipzig 31, 193 - 249, 1932
- DRAGSTEDT, C.A. and M.A. MILLS: The removal of i.v.-injected bilirubin from the bloodstream in the dog.
Amer. J. Physiol. 119, 713 - 719, 1937
- EDLUND, Y.A. and L.E. GELIN: Microcirculatory alterations in biliary obstruction.
Acta path. microbiol. Scand. 54, 181 - 189, 1962
- EPPINGER, H.: Beiträge zur normalen und pathologischen Histologie der menschlichen Gallekapillaren mit besonderer Berücksichtigung der Pathogenese des Ikterus.
Beitr. path. Anat. 31, 230 - 295, 1902
- : Die Leberkrankheiten.
Springer-Verlag, Wien, 1937
- FELS, V. u. E. RITTER:

J. anat. physiol., Paris 315 - , 1870
zit. n. Retzlaff
- FOA, P. u. G. SALVIOLI: Ricerche anatomiche sperimentale sulla patologia del fegato.
Arch. per le scienze med. 2, 1 - , 1877/78
zit. n. Loeffler
- FROMHOLDT u. NERSESSOFF: Untersuchungen über den Bilirubin-stoffwechsel.
Biochem. Zschr. Berlin 125, 149 - 157, 1921
- GEBHARDT, F.: Untersuchungen über den Einfluß der Portalblutumleitung auf die Leberfunktion und den Gallenfarbstoffwechsel.
Zschr. exper. Med., Berlin 106, 213 - 234 u. 468 - 492, 1939
- GEDIGK, P.: Über die Methoden zur Bilirubinbestimmung im Serum.
Zschr. Röntgen Labor. Prax. 3, 276 - 282, 1950

- GEDIGK, P. u. G. GRIES: Über den Unterschied zwischen den Diazoreaktionen des direkten und indirekten Bilirubins.
Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chem. 289,
261 - 271, 1952
- GEDIGK, P. u. G. GRIES: Über den Einfluß der Wasserstoffionen-
konzentration auf die Diazoreaktion des
direkten und indirekten Bilirubins.
Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 58, , 1952
- GEDIGK, P.: The Biological Significance of Direct and
Indirect Bilirubin. Modern Problems in
Pathogenesis of Jaundice.
Proc. VIIIth Intern. Congress of Hematology
Tokyo 2, 1078 - 1087, 1962
- GRIES, G., P. GEDIGK u. J. GEORGI: Zur Trennung des direkten
und indirekten Bilirubins durch Papierchroma-
tographie.
Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chem. 298,
132 - 139, 1954
- GERHARDT, D.: Über Leberveränderungen nach Gallengangs-
unterbindungen.
Arch. exp. Path. Pharmak. 30, 1 - 20, 1892
- GLOGGENGIESSER, W.: Experimentell-morphologische und systemati-
sche Untersuchungen über die seröse Entzündung
der Leber nebst Beiträgen experimenteller
Leberzellschädigungen durch Bakterien, Bakte-
rientoxine und mechanisch-operative Eingriffe.
Virch. Arch. path. Anat. 312, 64 - 115, 1944
- HEIDENHAIN, R.: In Hermanns Handbuch der Physiologie 5, 276 pp,
Verlag Vogel, Leipzig, 1883
- HEIMANN, F.: Über Bilirubin-Belastungen bei Herbivoren
unter normalen und pathologischen Bedingungen.
Biochem. Zschr., Berlin 263, 316 - 322, 1933
- HEIMANN, R.: Factors producing Liver Cell Necrosis in
Experimental Obstruction of the Common Bile
Duct.
J. Path. Bact. 90, 479 - 485, 1965
- HELLER, R.: Zur Frage der Bilirubinbestimmung im tierischen
und menschlichen Serum.
Zschr. exper. Med. 87, 17 - 21, 1933
- HIJMANS VAN DEN BERGH, A.A.: Gallenfarbstoff im Blut.
J.A. Barth, Leipzig 1928 (2. Ed.)

- HIYEDA, K.: Experimentelle Studien über den Ikterus.
Beitr. path. Anat. 73, 541 - 565, 1925
- HOUSSET, E., J.P. ETIENNE e J. BARBÉ: Signification du
Syndrome dit »de cholostase« Role de
l'Intoxication biliare.
Path. Biol. 13, 25 - 30, 1965
- JANOWSKY, W.: Beiträge zur pathologischen Anatomie der
biliären Leberzirrhose.
Beitr. path. Anat. 11, 344 - 370, 1892
- JANSON, C.: Über Leberveränderungen nach Unterbindung
der A. hepatica.
Beitr. path. Anat. 17, 505 - 546, 1895
- JENDRASSIK, L. u. R.A. CLEGHORN: Fotometrische Bilirubin-
bestimmungen.
Biochem. Zschr. Berlin 289, 1 - 14, 1937
- KETTLER, L.H.: Die blasige Entartung der Leber- und Nieren-
epithelien.
Verh. Dtsch. path. Ges. 34, 333 - 336, 1950
- ; Zur Pathogenese hydropischer Zellveränderungen
in Leber und Niere.
Virch. Arch. path. Anat. 321, 326 - 354, 1952
- : Parenchymschädigungen der Leber.
Erg. allg. Path. 37, 1 - 206, 1954
- : Die Leber.
In: Kaufmann, Lehrbuch der speziellen patho-
logischen Anatomie II/2, 913 - 1260.
Verlag Walter de Gruyter & Co. Berlin, 1958
- KIKUCHI, Sch.: Experimentelle Studien über die Entstehung
der biliären Leberzirrhose unter Berücksich-
tigung der sog. Netznnekrosen.
Beitr. path. Anat. 94, 581 - 598, 1934/35
- KÜHN, H.A., R. SCHNEIDER u. S. SPITZMÜLLER: Experimentelle
Beiträge zur Frage der Diazoreaktion des Serum-
bilirubins.
Zschr. exper. Med. 124, 52 - 64, 1954
- LOEFFLER, L.: Leberstudien I. Beiträge zur Kenntnis der
Entstehung der Nekrose und der Bindegewebs-
hyperplasie.
1) Die Folgen der Unterbindung des Ductus
choledochus.
Virch. Arch. path. Anat. 265, 41 - 75, 1927

- LOEFFLER, L.: Leberstudien II. Beiträge zur Kenntnis der Entstehung der Nekrose und der Bindegewebs-hyperplasie.
2) Die Folgen der Unterbindung der Leberarterie.
Virch. Arch. path. Anat. 266, 55 - 98, 1927
- LOPEZ-GARCIA, A., J.F. ZELASCO u. E.A. PEDACE:

An. Inst. invest. físicas 5, 13 - 58, 1943
zit. n. With
- MATSUMOTO, H.: Pathogenesis of reticular necrosis of the liver in experimental obstructive jaundice.
Kobe J. med. Sci. 6, 147 - 177, 1960
- MEIER, E.C. u. H. HEINELT: Über den Einfluß des Galleflusses und der Nahrungsaufnahme auf den Bilirubin-gehalt des Blutes und die Urobilinogenaus-scheidung mit dem Urin.
Dtsch. Arch. klin. Med. 142, 94 - 109, 1923
- MYREN, J. u. T. VINJE: The effect of carbon tetrachloride on liver and liver transplants in mice.
Acta path. et microbiol. Scand. Suppl. 93, 173 - 178, 1952
- OGATA, T.: Beiträge zur Pathogenese des Ikterus mit spezieller Berücksichtigung der Gallekapilla-ren bei der Unterbindung des Ductus chole-dochus und der ikterogenen Vergiftung.
Beitr. path. Anat. 55, 236 - 321, 1913
- PARI, G.A.: Über die Verwendbarkeit vitaler Karminein-spritzungen für die pathologische Anatomie.
Frankf. Zschr. Path. 4, 1 - 29, 1910
- POPPER, H. u. F. SCHAFFNER: Die Leber: Struktur und Funktion.
Thieme-Verlag, Stuttgart, 1961
- POPPER, H.: Morphologic aspects of cholestasis.
7^e Congres International de l'Association des Sociétés Nationales Européennes et Méditerranéennes de Gastro-Enterolog e.
Extrait du volume I. Thème III. S. 289 - 294, 1964
- RETZLAFF, K.: Experimentelle und klinische Beiträge zur Pathologie des Ikterus.
Zschr. exp. Med. Berlin 34, 133 - 196, 1923
- ROZDILSKY, B.: Toxicity of Bilirubin in Adult Animals.
A.M.A. Arch. Path. 72, 8 - 17, 1961

- ROZDILSKY, B. and J. OLSZEWSKI: Experimental study of the toxicity of bilirubin in newborn animals.
J. Neuropath., Baltimore, 20, 193 - 205, 1961
- SAUERHERING, H.: Über multiple Nekrosen in der Leber bei Stauungsicterus.
Virch. Arch. path. Anat. 137, 155 - 175, 1894
- SNAPP, F.E., M. GUTMANN, T.W. LI and A.C. IVY: The experimental production of jaundice of the indirect reacting type by the injection of a preparation of direct reacting bilirubin.
J. Laborat. Clin. Med. S. Louis 32, 321 - 322, 1947
- ŠOUSTEK, Z.: Pathologische Befunde an peroperativen Leberexcisionen.
Zbl. allg. Path. 100, 242 - 249, 1959
- SCHOLDERER, H.: Das Verschwinden von in die Blutbahn injiziertem Bilirubin aus dieser und der Einfluß der Milz hierauf.
Biochem. Zschr. 254, 137 - 144, 1933
- SCHWEZOFF, S.W.: Experimentelle Studien zur Frage der Leberfunktionsprüfung.
Zschr. exp. Med., Berlin 73, 285 - 292, 1930
- STEINER, J.W. and J.B. MARTINEZ: Effects on the rat liver of bile duct, portal vein and hepatic artery ligations.
Amer. J. Path. 39, 257 - 289, 1961
- , J.S. CARRUTHERS and S.R. KALIFAT: Vascular Alterations in the Liver of Rats with Extrahepatic Biliary Obstruction.
An Electron and Fluorescent Microscopic Study.
Exper. Mol. Path. 1, 427 - 456, 1962
- STROEBE, F.: Die experimentellen Grundlagen der Bilirubinbelastungsprobe und ihr Anwendungsgebiet bei Leberschädigungen des Menschen.
Zschr. klin. Med. 120, 95 - 111, 1932
- TARCHANOFF, J.F.: Über die Bildung von Gallepigment aus Blutfarbstoff im Tierkörper.
Pflügers Arch. Physiol. 9, 53 - 65, 1874
- TISCHNER, R.: Vergleichende Untersuchungen zur Pathologie der Leber.
Virch. Arch. path. Anat. 175, 90 - 184, 1904

- TSUNODA, T.: Eine experimentelle Studie über die Folgen der Stenose oder Obliteration des Ductus choledochus.
Virch. Arch. path. Anat. 193, 213 - 238, 1908
- WEINBREN, K. and B.H. BILLING: Hepatic Clearance of Bilirubin as an Index of Cellular Function in the Regenerating Rat Liver.
Brit. J. Exper. Path. 37, 199 - 204, 1956
- WESPI, H.: Experimentelle Untersuchungen über die Beeinflussung der Bilirubinausscheidung im Urin durch Gallensäure.
Klin. Wschr. 14, 1820 - 1821, 1935
- WESTPHAL, U. u. P. GEDIGK: Zur Frage der Bindung des Bilirubins an die Serumproteine.
Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chem. 283, 161 - 179, 1948
- , -- : Über das Verhältnis von "direktem" zu "indirektem" Bilirubin.
Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chem. 248, 274 - 283, 1949
- , H. OTT u. P. GEDIGK: An welche Komponenten der Serumproteine ist das Bilirubin gebunden?
Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chem. 285, 200 - 207, 1950
- WITH, T.K.: Biologie der Gallenfarbstoffe.
Thieme-Verlag, Stuttgart, 1960

L e b e n s l a u f

Am 18. 5. 1937 wurde ich in Düsseldorf geboren als 4. Kind des Arztes Dr. med. Hermann Müller-Wallraf und seiner Ehefrau Margarethe, geb. Zeus. Vom Herbst 1943 an besuchte ich vier Jahre lang die Volksschule und wechselte Ostern 1948 zur Städtischen Helene-Lange-Schule in Düsseldorf, einem neu-sprachlichen Gymnasium, an dem ich im März 1957 die Reifeprüfung ablegte.

Im SS 1957 begann ich mit dem Studium der Medizin, zunächst für zwei Semester in Köln, ab SS 1958 in Freiburg. Hier bestand ich am 30. 10. 1959 das Physikum. Vom 2. Klinischen Semester an studierte ich schließlich an der Medizinischen Akademie meiner Heimatstadt Düsseldorf, wo ich am 31. 1. 1963 mein Studium mit dem Staatsexamen abschloß.

Während der ersten 10 Monate meiner Medizinalassistentenzeit arbeitete ich am Pathologischen Institut der Universität Marburg, anschließend für die chirurgische Zeit im Stadt-krankenhaus Bad Wildungen. Aus familiären Gründen - ich bin seit Januar 1964 mit Dr. med. Reinhard Müller verheiratet und habe inzwischen eine kleine Tochter - unterbrach ich meine Ausbildung für 1 1/2 Jahre. Von Januar bis April 1966 setzte ich die Medizinalassistentenzeit an der Universitäts-Frauenklinik Marburg fort und arbeitete abschließend in der Medizinischen Poliklinik Marburg. Seit meiner Approbation am 15. 12. 1966 arbeite ich bis heute als Verwalter einer wissenschaftlichen Assistentenstelle an der Universitäts-Kinderklinik Marburg.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren
und Dozenten

in Köln: Alder, Birkofer, von Fragstern, Jaumann, Kirchner,
Kuhn, Linskens, Spanner, Straub, Tischendorf;

in Freiburg: Büchner, Creutzfeldt, Fleckenstein, Fischer,
Goerttler, Heilmeyer, Hoffmann, Holzer, Keller, von Kugelgen,
Lüttringhaus, Schmidt, Schubothé;

in Düsseldorf: Baron, Baumgartl, Bay, Becker, Buchholz, Carrié,
Custodis, Derra, Dettmar, Dibbelt, Effert, Elert, Esser, Fresen,
Gerfeldt, Gerhard, Gerke, Gillmann, Görtz, Greeff, Grosse-Brock-
hoff, Grün, Hagen, Hansen, Idelberger, Irmer, Janssen, Kiessel-
bach, Kikuth, Klages, Klinke, Langer, Lindner, Löhr, Major,
Manz, Meessen, Meyer zum Gottesberge, Oberdisse, Oberdorf,
Odenthal, Panse, Plester, Pothmann, Sack, Schlipköter, Schreus,
Schweitzer, Trube-Becker, Urban, Vieten, Weise, Wild, Wirth.

